

酵母转化试剂盒

产品货号：BA3163

产品规格：200T

产品简介：

酵母转化试剂盒主要用于酿酒酵母质粒转化实验，该试剂盒遵循广大用户的使用习惯，分别提供PEG、LiAc和Carrier DNA溶液，PEG、LiAc均经过滤除菌，Carrier DNA经特殊优化处理，更有助于提高质粒DNA的转化效率。该试剂盒可根据实际需要灵活配制1×LiAc溶液和转化预混液，既方便使用，又经济实惠。

本产品在原先试剂盒上进行了升级，增加了感受态冻存液，感受态保存6-12个月还可以保证较高的转化效率。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件
PEG Solution	50ml	室温
10 × LiAc Solution	10ml	室温
感受态冻存液/Y2溶液	10ml	室温
Carrier DNA	1ml×2	-20℃

感受态细胞制备：

- 活化菌种。-80℃保存的菌种在YPDA培养基平板上划线，30℃培养2-4天。
- 挑取酵母单菌落在YPDA培养基平板上划3-5mm的短线，30℃培养2-4天。
注意：冻存半年以内的酵母菌，活化一次即可。
- 待酵母单菌落长至直径2mm时，把酵母细胞接种到3mL YPDA液体培养基中，30℃过夜培养。
- 第二天转接到含有50mL YPDA液体培养基的三角瓶中继续培养，待OD600达到0.5-0.8，4000rpm离心5min，弃上清。
- 沉淀用30mL的无菌的去离子水悬浮。4000rpm离心5min，弃上清。
- 沉淀用1.5mL 1×LiAc（150μL 10×LiAc Solution加1350μL无菌水）重悬后转移至1.5mL离心管中，4000rpm离心5min，弃上清。
注意：10×LiAc Solution经过pH缓冲，无需添加TE作为缓冲剂。
- 加入1mL感受态冻存液/Y2溶液重悬，小体积转化按照每管50μL分装于1.5mL无菌冻存管，转文库按600μL分装，感受态细胞即制备完毕，可直接用于转化或按下述方案冻存。
- 制备好的感受态细胞需缓慢冷冻后，再置于-80℃冰箱长期保存。将感受态细胞放入程序降温盒，或用多层纸包裹放入泡沫盒中，先置于-80℃冰箱过夜后，再取出感受态置于-80℃冰箱，可保存一年。使用前室温融化后用于转化。

转化预混液配制：

成分	质粒转化预混液	文库转化预混液
PEG Solution	240μL	1680μL
10 × LiAc Solution	36μL	252μL
Carrier DNA	10μL	40μL
质粒	5μL（≈200ng/μL）	5-15μg
总体积	310μL（ddH ₂ O补足体积）	2170μL（ddH ₂ O补足体积）



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

酵母质粒转化:

1. 将310 μ L预混液加入1支感受态细胞中,反复吹吸沉淀,使酵母细胞彻底悬浮于预混液中。
2. 30 $^{\circ}$ C的水浴锅中孵育30min,每10min混匀一次。
3. (加入20 μ L DMSO,可选)42 $^{\circ}$ C的水浴锅中热击30min,每10min混匀一次。
4. 12000rpm离心15s,弃上清液。
5. (可选步骤)用1mL YPD Plus Liquid Medium重新悬浮,30 $^{\circ}$ C摇床震荡培养30-60 min。12000rpm离心15s,弃上清液。
6. 加入0.1-1mL无菌去离子水或0.9%氯化钠溶液重悬沉淀,涂筛选培养基平板,30 $^{\circ}$ C培养2-4天。

酵母文库转化: (需用15-50mL离心管)

1. 将2170 μ L预混液加入到感受态细胞(600 μ L)中,震荡使感受态细胞充分重悬。
2. 放置在30 $^{\circ}$ C的水浴锅中孵育50min,每10min混匀一次。
(加入160 μ L DMSO,可选)放置在42 $^{\circ}$ C的水浴锅中热击30min,每10min混匀一次。
3. 4000rpm离心5min,弃上清液。
4. (可选步骤)用3mLYPD Plus Liquid Medium重悬沉淀,30 $^{\circ}$ C摇床震荡培养90min,4000rpm离心5min,弃上清液。
5. 加入15mL无菌去离子水或0.9%氯化钠溶液重悬菌体,涂筛选培养基平板(50个平板左右),30 $^{\circ}$ C培养2-4天。

注意事项:

1. 转化全程需无菌操作。
2. 初次使用Carrier DNA,请把装有Carrier DNA的管子在沸水中煮沸5min,然后立即放在冰上,用后-20 $^{\circ}$ C储存备用。下次使用前在冰上解冻Carrier DNA。反复冻融3-5次后需重新变性Carrier DNA。
3. PEG溶液在低温环境下会析出,请于常温环境下完全溶解后使用。
4. 根据质粒浓度增减体积,增加酵母质粒的纯度和浓度可以提高转化效率。

储存条件:

Carrier DNA -20 $^{\circ}$ C保存,其它组分可室温保存,未开封有效期24个月。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com